

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia batang brotowali yang diperoleh dari UPT Materia Medika, Batu. Bahan aktif pada penelitian ini ialah ekstrak batang brotowali yang dibuat di Laboratorium Sintesis Farmasi UMM. Sedangkan bahan tambahannya ialah Laktosa, Avicel PH 101, HPMC 2910 5 cps, Primogel, dan Magnesium Stearat yang diperoleh dari PT JRP dengan kualitas farmasetika.

4.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak batang brotowali meliputi: maserator ultrasonik (*Cole-Pharmer Ultrasonic Branson 2510*), corong buchner, rotavapor (*Rotavapor Heidolph G3*). Uji mutu fisik granul: ayakan granul mesh 14 dan 18, alat uji kecepatan alir dan sudut diam (corong standard dan stopwatch), alat uji kandungan lengas (*Mettler Toledo HB43-S*), alat uji kadar fines (*Shieve shaker Pharmaco S04-WT*), dan alat penekan hidrolik (*Perkin Elmer Hydraulische Press*). Uji mutu fisik tablet: alat uji kekerasan (*Hardness Tester monosanto*), alat uji kerapuhan (*Friability Tester Pharmeq FT-USP 120*), dan alat uji waktu hancur (*Disintegrating Tester 2 Cavity*). Pembuatan tablet: mortir, stamper, ayakan granul mesh no 14 dan 18, dan lemari pengering (*Circulating Air Drying Oven*) dan neraca analitik (*Mettler Toledo PL 3002 dan Ohaus*). Uji viskositas: (*Brookfield Dial-Reading Viscometer*).

4.3 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental dengan membandingkan kadar bahan pengikat HPMC 2910 5 cps terhadap mutu fisik tablet ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L.). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Formulasi Sediaan Farmasi Universitas Muhammadiyah Malang selama kurang lebih 2 bulan.

Pada penelitian ini dilakukan dengan membuat 3 macam formula sediaan tablet dengan variasi kadar bahan pengikat sebesar 1%, 2%, 3% dan 1 formula tanpa bahan pengikat sebagai kontrol, yang dibuat dengan menggunakan metode

granulasi basah. Untuk setiap formula sediaan tablet dibutuhkan granul sebanyak 150 g yang digunakan untuk uji mutu fisik granul dan pembuatan tablet itu sendiri dan dilakukan replikasi sebanyak dua kali. Populasi pada penelitian ini adalah tablet ekstrak batang brotowali sejumlah 100 tablet dengan replikasi sebanyak dua kali, sedangkan sampel pada penelitian ini diambil dengan cara acak sesuai dengan jumlah tablet yang akan diuji. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar HPMC 2910 5 cps pada ekstrak batang brotowali. Variabel tergantung yaitu mutu fisik tablet ekstrak batang brotowali. Tablet yang sudah jadi kemudian dilakukan evaluasi terhadap mutu fisik tablet.

Formula sediaan tablet dapat dilihat pada tabel IV.1. Ekstrak batang brotowali yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebanyak 170 g berdasarkan perhitungan rendemen yang diperoleh saat studi praformulasi.

Tabel IV. 1 Rancangan Formula Tablet Ekstrak Batang Brotowali

Komposisi	Fungsi	Formula (mg)			
		F1	F2	F3	F4
Ekstrak Batang Brotowali	Bahan Aktif	100	100	100	100
Laktosa*)	Pengisi	457,6	452	446,4	440,8
Avicel PH 101*)	Pengisi	114,4	113	111,6	110,2
HPMC 2910 5 cps	Pengikat	-	7	14	21
Primogel	Penghancur	21	21	21	21
Magnesium Stearat	Lubrikan	7	7	7	7
Bobot Tablet		700	700	700	700

Keterangan:

*) Perbandingan Laktosa : Avicel PH 101 = 80% : 20%

F1 = formula tablet tanpa HPMC 2910 5 Cps sebagai kontrol

F2 = formula tablet dengan HPMC 2910 5 cps dengan kadar 1%

F3 = formula tablet dengan HPMC 2910 5 cps dengan kadar 2%

F4 = formula tablet dengan HPMC 2910 5 cps dengan kadar 3%

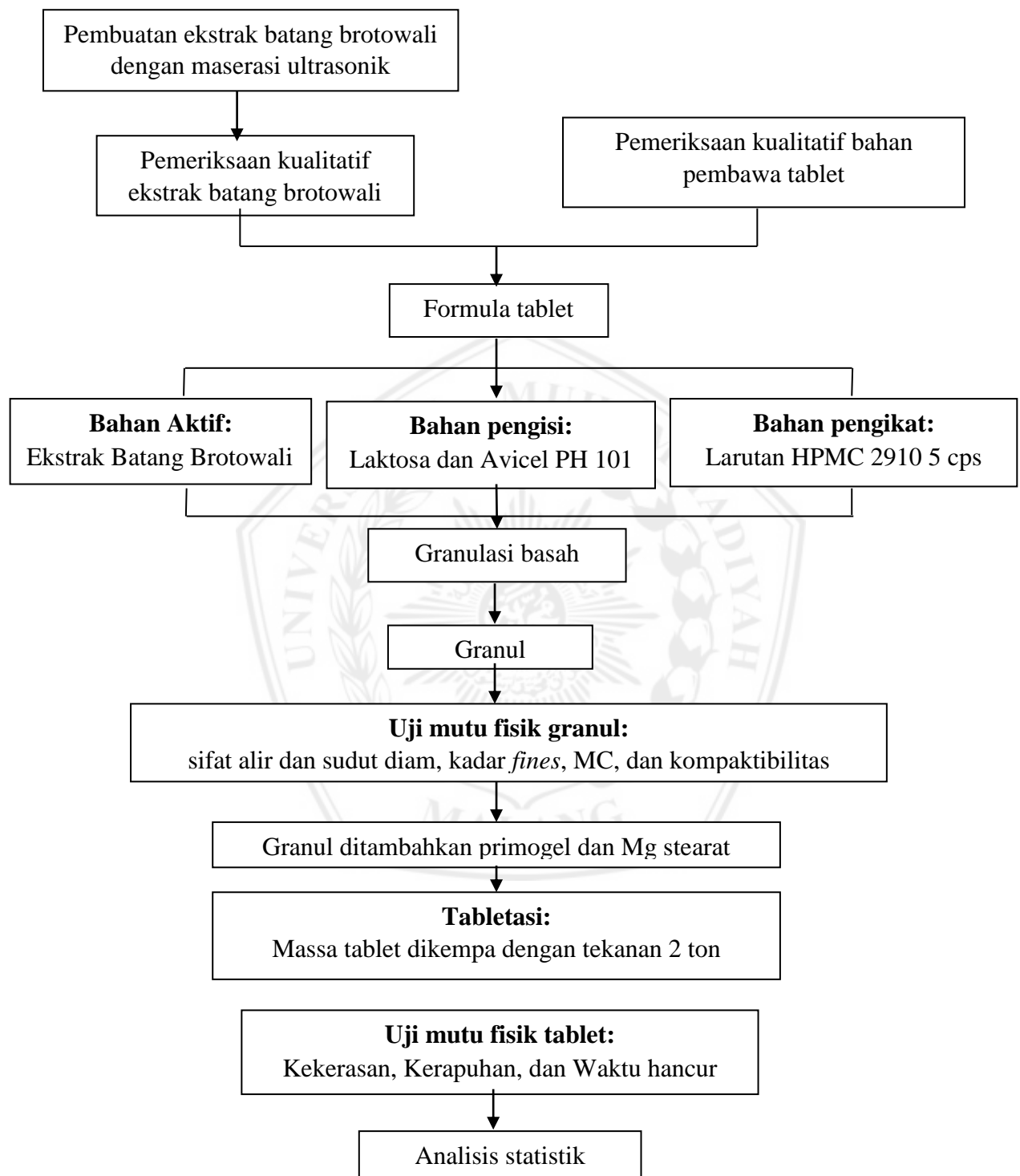
4.4 Cara Kerja

Proses penelitian ini diawali dengan membuat ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) menggunakan metode maserasi ultasonik dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak cair yang diperoleh dari hasil maserasi ultrasonik kemudian dirotavapor. Setelah itu ekstrak hasil rotavapor kemudian dipanaskan diatas penangas air untuk menghilangkan sisa pelarut.

Selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan uji reaksi warna untuk mengetahui adanya senyawa golongan terpenoid dalam ekstrak. Kemudian dilanjutkan pemeriksaan kualitatif pada bahan tambahan Laktosa, Avicel PH 101, HPMC 2910 5 cps, Primogel, dan Magnesium stearat dengan menggunakan spektrofotometri inframerah. Untuk dosis yang digunakan pada pembuatan tablet ekstrak batang brotowali yaitu mengacu pada dosis posologi yang tertera dalam buku Formularium Obat Herbal Asli Indonesia.

Kemudian dipersiapkan untuk pembuatan tablet ekstrak batang brotowali menggunakan metode granulasi basah. Pembuatan granul dilakukan di mortir. Ekstrak batang brotowali, Laktosa, Avicel PH 101, HPMC 2910 5 cps, Primogel, dan Mg Stearat ditimbang sesuai perhitungan pada masing-masing formula. Masukkan bahan pembawa Laktosa dan Avicel PH 101 ke dalam mortir. Kemudian ditambahkan ekstrak batang brotowali kedalam mortir. Selanjutnya bahan pengikat HPMC 2910 3 Cps dilarutkan kedalam air dingin sampai larut. Larutan HPMC 2910 5 cps ditambahkan ke dalam campuran serbuk sampai homogen hingga terbentuk granul basah yang kalis. Granul basah diayak dengan ayakan mesh 14. Selanjutnya granul basah dikeringkan didalam lemari pengering sampai diperoleh kelembaban 1-2%. Kemudian granul diayak lagi dengan pengayak granul mesh 18 dengan tujuan untuk menyeragamkan ukuran granul.

Granul yang diperoleh dilakukan uji mutu fisik granul yang meliputi: kecepatan alir dan sudut diam, kadar lembab granul, kadar *fines*, dan kompaktibilitas. Kemudian dibentuk menjadi massa kempa dengan penambahan bahan penghancur dan bahan pelumasan Mg Stearat. Pembuatan tablet dilakukan dengan alat kempa hidrolik, dikempa satu per satu dengan cara menimbang massa kempa sebanyak 700 mg per tablet dengan diameter tablet 13 mm. Selanjutnya dilakukan uji mutu fisik tablet yang meliputi kekerasan, kerapuhan, dan waktu hancur tablet, dan hasilnya dianalisis secara statistik. Persyaratan kekerasan tablet antara 4-8 kg, kerapuhan tablet kurang dari atau sama dengan 1% dan waktu hancur tablet berkisar antara kurang dari 15 menit. Bagan alur penelitian dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Skema Alur Penelitian

4.4.1 Pembuatan dan Pemeriksaan Ekstrak Batang Brotowali

4.4.1.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Ekstrak Batang Brotowali

Proses pembuatan serbuk simplisia batang brotowali dilakukan di UPT. Materia Medika, Batu. Pembuatan serbuk simplisia diawali dengan pemanenan batang brotowali kemudian dicuci sebanyak 3 kali, setelah dicuci kemudian ditiriskan. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan didalam ruangan khusus dengan bantuan sinar matahari langsung. Proses pengeringan dilakukan selama 7 hari sehingga diperoleh batang brotowali yang kering. Setelah itu, batang brotowali yang sudah kering digiling menggunakan alat penggiling yang dilengkapi dengan ayakan mesh 90 sehingga didapatkan simplisia serbuk yang halus dengan ukuran yang sama (UPT. Materia Medika).

4.4.1.2 Pembuatan Ekstrak Batang Brotowali

Pembuatan ekstrak batang brotowali dibuat dengan menggunakan serbuk simplisia batang brotowali kemudian ditimbang sebanyak 3,3 kg dan dilakukan proses maserasi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode ultrasonik. Pelarut etanol digunakan dalam mengekstrak batang brotowali. Untuk setiap proses maserasi, serbuk simplisia batang brotowali ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dilarutkan dalam 1000 ml etanol 96% (Desmiaty *et al.*, 2014). Prosedur: pada maserasi pertama ditambahkan 400 ml etanol 96% lalu disonikasi selama 30 menit, selanjutnya dilakukan penyaringan, hasil filtrat ditampung. Pada maserasi kedua ditambahkan 300 ml etanol 96% pada residu dan disonikasi selama 30 menit, hasil filtrat ditampung. Pada maserasi ketiga ditambahkan 300 ml etanol 96% pada residu dan disonikasi selama 30 menit, selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan saringan *buchner*, hasil filtrat ditampung. Hasil filtrat dari penyaringan pertama sampai penyaringan ketiga ditampung dalam 1 tempat. Kemudian hasil filtrat yang didapatkan dipekatkan dengan rotavapor pada suhu 40°C, proses ini bertujuan untuk menguapkan pelarut etanol yang terdapat dalam ekstrak cair sehingga akan diperoleh ekstrak yang kental.

4.4.1.3 Pemeriksaan Kualitatif Ekstrak

Pemeriksaan kualitatif untuk mengetahui adanya senyawa terpenoid yang terkandung dalam ekstrak batang brotowali dilakukan dengan menggunakan Uji reaksi warna Lieberman-Buchard dan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Uji Reaksi Warna Lieberman-Buchard

Untuk Uji reaksi warna Lieberman-Buchard dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 50-100 mg diletakkan pada plat tetes, lalu ditambahkan asam asetat sampai semua larutan terendam, dibiarkan 15 menit. Kemudian dipipet 6 tetes larutan tersebut dimasukkan tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya terpenoid ditunjukkan dengan adanya warna merah jingga atau ungu (Sangi *et al.*, 2012).

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk identifikasi KLT senyawa terpenoid dilakukan dengan menggunakan larutan pengembang n-heksana : etil asetat sebagai fase gerak, dan silica gel sebagai fase diam, lalu diseprotkan penampak noda anisaldehida – asam sulfat akan memberikan spot noda merah keunguan (Arundina *et al.*, 2015). Prosedur: ekstrak di dalam vial ditambahkan dengan 1 ml n-heksana, setelah itu diultrasonik. Kemudian larutan sampel ditotolkan pada lempeng KLT. Lempeng KLT kemudian diamati pada sinar UV 254, kemudian diekspansi pada bejana yang berisi fase gerak n-heksana-etil-asetat (4:1). Setelah itu lempeng KLT diamati dibawah sinar UV λ 254 nm dan UV λ 365 nm. Lempeng KLT kemudian disemprot dengan penampak noda anisaldehida H₂SO₄ lalu dipanaskan. Setelah dipanaskan dan diberi penampak noda akan timbul noda berwarna ungu.

Selanjutnya identifikasi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berdasarkan harga R_f, dimana harga R_f dapat didefinisikan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

4.4.2 Pemeriksaan Kualitatif Bahan Pembawa

Pemeriksaan kualitatif bahan pembawa pada formulasi tablet obat dilakukan dengan analisis spektrofotometri IR. Hal ini dilakukan untuk mendeteksi gugus fungsi dari sampel dibandingkan dengan spektra pada pustaka (Bhowmik *et al.*, 2009).

4.4.2.1 Prosedur Pemeriksaan Kualitatif Bahan Pembawa

Bahan pembawa yang diperiksa adalah Laktosa, Avicel PH 101, HPMC 2910 5 cps, Primogel, dan Mg stearat. Pemeriksaan dilakukan dengan

spektrofotometri inframerah. Prosedur: campur 1 mg bahan pembawa dengan 300mg serbuk KBr kering digerus sampai homogen, kemudian dikompresi menggunakan penekan hidrolik yang dilengkapi dengan alat penarik uap agar diperoleh lempeng yang tipis dan tembus cahaya. Selanjutnya diukur serapannya pada spektrofotometri IR. Spektra inframerah yang diperoleh dari sampel dibandingkan dengan spektra pada pustaka (Departemen Kesehatan RI, 2014).

4.4.3 Pemeriksaan Mutu Fisik Granul

Granul yang akan dicetak menjadi tablet terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan mutu granul yang meliputi uji kecepatan alir dan sudut diam, kadar *finer*, penentuan kandungan lengas, dan penentuan kompaktibilitas. Tujuan pemeriksaan ini ialah untuk mendapatkan granul yang layak dicetak menjadi tablet yang memenuhi standar.

4.4.3.1 Uji Kecepatan Alir dan Sudut Diam

Uji kecepatan alir dan sudut diam dilakukan dengan prosedur penimbangan granul sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam corong dengan menutup ujung corong dan kemudian disiapkan stopwatch untuk menghitung kecepatan alirnya. Penutup ujung corong dibuka dan dibiarkan mengalir keluar, dilakukan pencatatan terhadap diameter, tinggi dan waktu mengalirnya granul dan kecepatan alirnya (Musa *et al.*, 2011). Kecepatan alir granul yang baik adalah jika lebih besar dari 10 g/detik, dengan sudut diam antara 24-40° (Agoes, G., 2012).

Kecepatan alir berhubungan dengan sudut istirahat. Dengan cara dihitung dari tinggi dan diameter kerucut yang dihasilkan, dan menggunakan persamaan berikut (Patel *et al.*, 2012).

$$\tan \theta = \frac{h}{r}$$

Keterangan: h = tinggi kerucut

r = jari-jari kerucut

Tabel IV. 2 Hubungan Sudut Diam dan Daya Alir (Ashish, 2011).

Sudut Diam (°)	Daya Alir
<20	Sangat baik
20-30	Baik
30-34	Cukup Baik
>34	Buruk

4.4.3.2 Kadar *Fines*

Kadar *Fines* ditentukan dengan mengayak granul menggunakan alat *Shieve Shaker Pharmaco S04-WT* dengan cara menimbang ayakan mesh 120 dan pan kemudian disusun. Granul 50 gram dimasukkan kedalam ayakan teratas dan ditutup. Kemudian tekan tombol *on* dan ditunggu selama 10 menit. Selanjutnya setiap ayakan ditimbang dan dihitung selisih antara ayakan berisi granul dan ayakan kosong. Perhitungan dilakukan pada mesh 120 dan pan (Musa *et al.*, 2011). Granul yang baik memiliki *fines* kurang dari 20%.

4.4.3.3 Penentuan Kandungan Lengas

Kandungan lengas granul dilakukan dengan menggunakan alat *Mettler Toledo HB43-S*. Prosedur: alat disiapkan dengan menekan tanda ON, kemudian alat ditara terlebih dahulu, selanjutnya granul sebanyak 2,6–3 gram diletakkan di pan dan diratakan, tekan tombol start. Kandungan lengas granul akan terbaca dan akan berhenti ditandai dengan lampu dari alat *Mettler Toledo HB43-S* mati. Persyaratan kandungan lengas granul kurang dari 2 % (Luo *et al.*, 2012).

4.4.3.4 Penentuan Kompaktibilitas

Alat yang biasa digunakan untuk uji ini adalah mesin alat kempa hidrolik. Prosedur: ditimbang granul dasar, primogel 3% sebagai penghancur dan Mg Stearat 1% sebagai lubrikan. Campur granul dasar dengan primogel terlebih dahulu, kemudian campurkan dengan Mg Stearat selama 5 menit. Kemudian campuran ditimbang sebanyak 700 mg, dimasukkan ke dalam mesin alat kempa hidrolik dengan ukuran punch 13 mm dan dikompresi dengan tekanan 1 ton dan 2 ton. Uji kompaktibilitas bertujuan untuk mengetahui kekompakan dari massa granul untuk membentuk kekerasan massa tablet yang cukup (Patel *et al.*, 2006).

4.4.4 Pemeriksaan Mutu fisik Tablet

Penentuan mutu fisik tablet yang dilakukan adalah kekerasan, kerapuhan, dan waktu hancur tablet.

4.4.4.1 Pemeriksaan Kekerasan

Alat yang digunakan pada uji kekerasan tablet adalah *Hardness Tester Monsanto*. Uji ini dilakukan dengan prosedur dipilih 10 tablet secara acak dari masing-masing formula secara acak. Setiap tablet dipasang pada *Hardness Tester Monsanto* dengan posisi vertical kemudian diputar bagian penekannya dan diamati skala saat tablet mulai retak. Kekerasan tablet dinyatakan dalam satuan kilogram (Reddy *et al.*, 2014).

4.4.4.2 Pemeriksaan Kerapuhan

Pemeriksaan kerapuhan tablet dilakukan dengan menghitung hilangnya berat tablet menggunakan alat *friability tester* dan dilakukan sebanyak 3 kali. Untuk tablet yang memiliki bobot lebih dari 650 mg dilakukan prosedur dengan cara ditimbang 10 tablet yang akan diuji kerapuhannya, selanjutnya seluruh tablet tersebut dimasukkan ke dalam alat uji kerapuhan, nyalakan alat dengan kecepatan 25 rpm dengan 100 kali putaran. Persyaratan kerapuhan tablet adalah bobot kurang dari 1% (USP, 2012). Presentase kerapuhan tablet dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Friabilitas} = \frac{\text{Berat tablet awal} - \text{berat tablet akhir}}{\text{Berat tablet awal}} \times 100$$

Tablet dinyatakan memenuhi persyaratan jika persentase kerapuhan kurang dari 1% (Patel *et al.*, 2012).

4.4.4.3 Pemeriksaan Waktu Hancur

Waktu hancur tablet menggunakan alat uji disintegrasi atau *Disintegrating Tester 2 Cavity* dan dilakukan sebanyak 3 kali. Alat ini terdiri dari keranjang yang berisi 6 tabung. Keranjang dimasukkan kedalam media yang berisi air (Mathur *et al.*, 2015). Dimasukkan 1 tablet dan 1 cakram pada masing-masing tabung dari keranjang. Jalankan alat, gunakan air bersuhu $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Departemen Kesehatan

RI, 2014). Menurut Farmakope Indonesia edisi III waktu hancur untuk tablet tidak bersalut adalah tidak lebih dari 15 menit.

4.5 Analisis Statistik

Hasil penentuan pengaruh kadar bahan pengikat HPMC 2910 3 Cps terhadap mutu fisik tablet ekstrak batang brotowali yang meliputi kekerasan tablet, kerapuhan tablet, dan waktu hancur tablet dianalisis menggunakan one way anova (*Analysis of Variant*) dengan program SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 18 dengan tingkat kepercayaan 95%. Dengan metode tersebut dapat diambil kesimpulan apakah antara F1, F2, F3, dan F4 terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik. Apabila diperoleh hasil F hitung lebih besar daripada F tabel, maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara F1, F2, F3, dan F4. Selanjutnya untuk mengetahui pada formula mana saja yang memiliki perbedaan dilakukan perhitungan dengan uji Tukey HSD (*Honestly Significant Difference Test*).